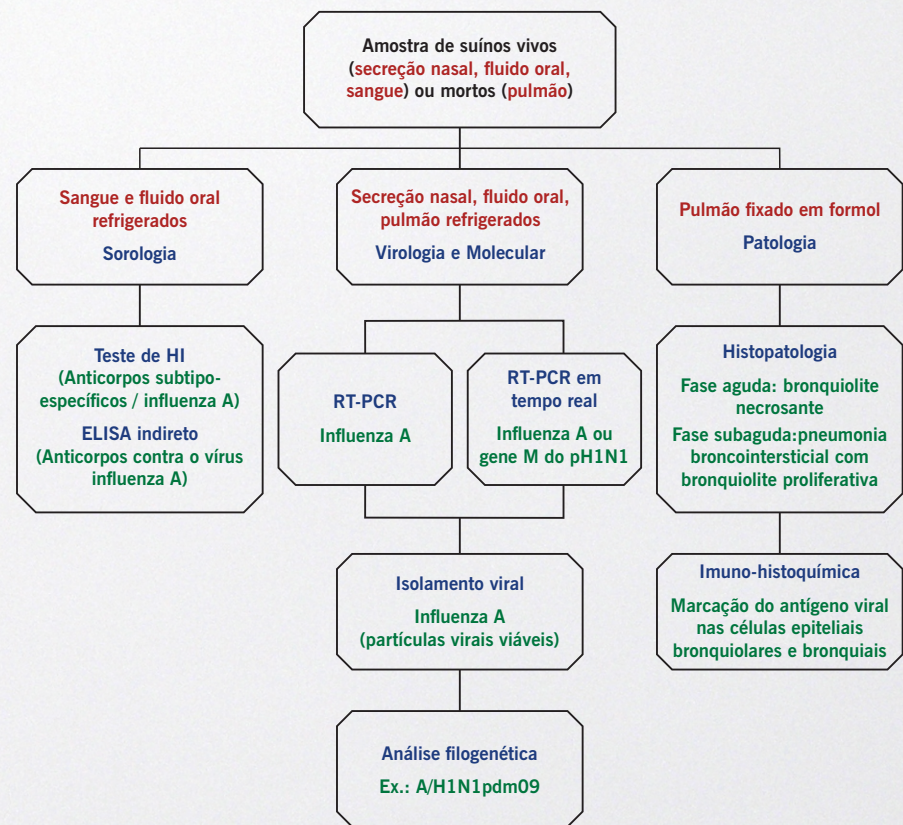


Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico de influenza é mais eficiente quando são colhidas amostras biológicas de vários suínos. Assim aumenta-se a possibilidade de ter alguns suínos amostrados durante o pico da excreção viral, ou com grande quantidade de vírus no pulmão, aumentando as chances de obter um diagnóstico positivo.

O sucesso do diagnóstico depende da correta seleção do suíno na fase aguda da doença e da colheita e envio adequados da amostra ao laboratório. As amostras (em vermelho) e resultados (em verde) das principais técnicas laboratoriais (em azul) para o diagnóstico de influenza em suínos estão sumarizados no organograma abaixo.



Pontos-chave para o sucesso do diagnóstico de influenza A em suínos

Etapa	Orientações
Seleção do suíno	1. Escolher um suíno com temperatura retal elevada (40,5-41,5°C), na fase aguda da doença 2. Evitar suínos refugos, medicados ou que morreram espontaneamente
Colheita da amostra	1. Secreção nasal: colheita profunda da cavidade nasal com o uso de suabe sintético 2. Contenção correta do suíno para retirada de sangue 3. Aguardar a retração do coágulo para obtenção do soro 4. Posição correta da corda de algodão na baia para obtenção de fluido oral 5. Amostras de pulmão com lesão, de suínos mortos recentemente
Acondicionamento e envio das amostras ao laboratório	1. Amostras identificadas 2. Amostras refrigeradas para o exame virológico 3. Amostras em formol a 10% para exame histopatológico e imuno-histoquímico 4. Embalagens que evitem vazamento ou compressão dos tecidos 5. Formulário de submissão da amostra devidamente preenchido 6. Envio rápido ao laboratório

Autoria: Danielle Gava, Raquel R. Rech, Rejane Schaefer, Marcia C. Silva, Janice R. Ciacci-Zanella
Revisores Técnicos: Jean Carlos P. V. B. Souza, Luizinho Caron, Marcos Antônio Zanella Morés

As informações deste folder foram compiladas do trabalho publicado: Schaefer et al. Orientações para o diagnóstico de influenza em suínos. Pesquisa Veterinária Brasileira. v. 33, p. 61-73, 2013. Disponível em www.pvb.com.br
Dúvidas: Entre em contato com a Equipe de Virologia de Suínos da Embrapa (e-mail: rejane.schaefer@embrapa.br).

INFLUENZA

Diagnóstico de influenza A em suínos: da granja ao laboratório



Influenza em suínos

É uma doença respiratória viral aguda, altamente contagiosa, causada pelo vírus influenza tipo A, que afeta suínos e outras espécies, incluindo humanos. Atualmente, no Brasil circulam em suínos os subtipos virais H1N1 pandêmico (pH1N1), H1N2, H3N2 e suas variantes.

Como ocorre a transmissão e infecção pelo vírus influenza?

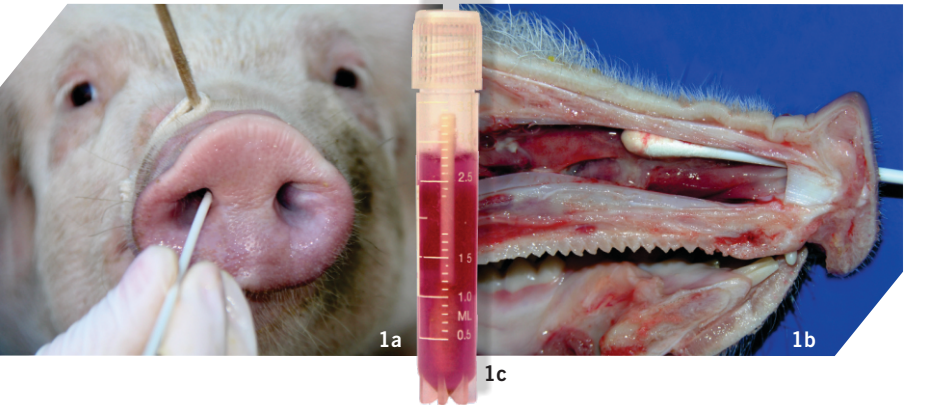
A transmissão ocorre por contato direto entre os suínos por meio das secreções nasais de suínos infectados/doentes, pois o vírus replica no epitélio respiratório e é excretado nas secreções nasais entre 24 horas até seis a oito dias pós-infecção (ver linha do tempo abaixo).

Colheita de amostras para diagnóstico laboratorial

Em suínos vivos, as amostras adequadas são secreção nasal e fluido oral. A colheita de sangue para obtenção do soro (Figura 4) para testes sorológicos tem valor diagnóstico limitado e é utilizada apenas para determinar o estado imune do rebanho, não indicando doença clínica. Em suínos mortos, o pulmão é a amostra de escolha (Figura 2).

1. SECREÇÃO NASAL

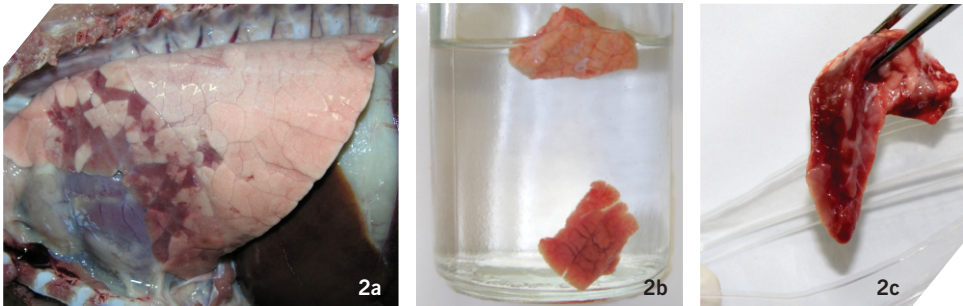
Para colheita de secreção nasal, molhar o suabe sintético no meio de transporte e introduzi-lo na direção dorso-medial da narina (Figura 1a), acompanhando o septo nasal (Figura 1b). Após, acondicionar o suabe no meio de transporte (Figura 1c) e manter em refrigeração (4-8°) até a chegada ao laboratório. Para obtenção do meio de transporte, entrar em contato com o laboratório.



2. PULMÃO

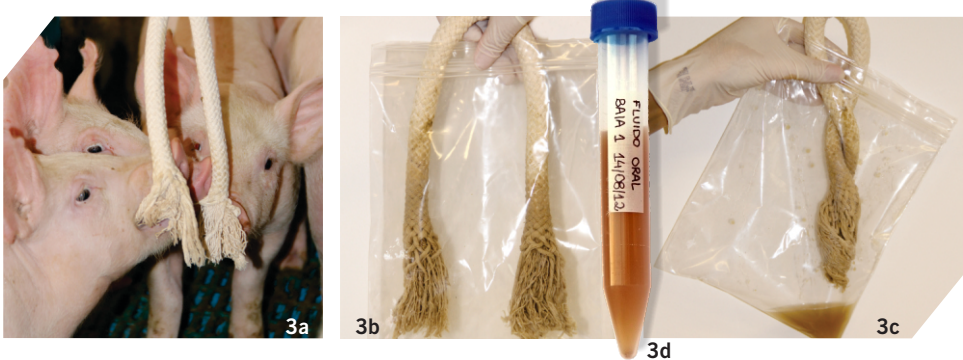
O aspecto macroscópico típico de pneumonia por influenza em suínos é de áreas vermelhas, ligeiramente deprimidas (atelectasia) e mais firmes (consolidação), afetando principalmente a região cranioventral do pulmão, que pode se estender às áreas caudais em lóbulos isolados, dando o aspecto de “tabuleiro de xadrez” (Figura 2a). Para exame histopatológico e imuno-histoquímico, colher pulmão com lesão de 1 cm de espessura, contendo brônquios e bronquíolos (áreas perto da traqueia), e colocar em frasco plástico de boca larga com formol tamponado a 10% (Figura 2b), deixando em temperatura ambiente. Para a realização de testes virológico (isolamento viral) e molecular (RT-PCR), colher fragmentos de pulmão dos lobos afetados e mantê-los refrigerados (Figura 2c).

Para teste virológico, não congelar as amostras em freezer convencional, pois o congelamento a -20°C inativa o vírus influenza.



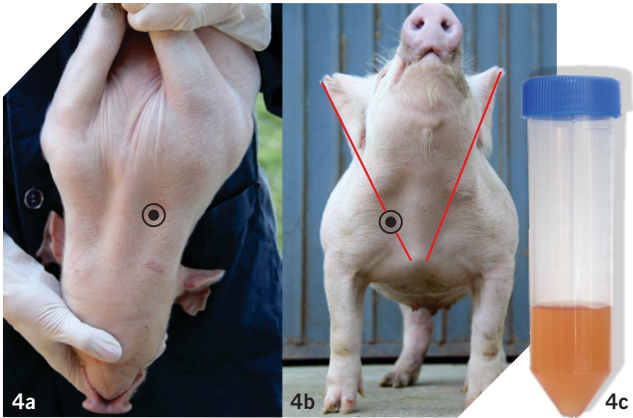
3. FLUIDO ORAL

Para colheita de fluido oral, posicionar uma corda de algodão de 1,5 cm de diâmetro na baia na altura do ombro dos suínos e deixar por aproximadamente 20 minutos para mastigação (Figura 3a). Colocar a parte molhada da corda dentro do saco plástico (Figura 3b) e torcer (Figura 3c). Cortar a ponta do saco plástico e transferir o fluido oral para frasco de transporte (Figura 3d). Manter em refrigeração até a chegada ao laboratório.



4. SANGUE

Para colheita de sangue de suínos até 30 kg, colocar o animal na posição vertical com leve tração da cabeça para baixo (Figura 4a). Em suínos com mais de 30 kg, posicioná-lo em estação com a cabeça tracionada para cima em ângulo de 30°. Duas linhas imaginárias (vermelhas) são traçadas da ponta de cada orelha até o esterno, para localização da fossa jugular (Figura 4b). A agulha é inserida no ponto preto do círculo, preferencialmente do lado direito do suíno, a fim de evitar lesão do nervo vago esquerdo. Após a colheita, manter o sangue na seringa em temperatura ambiente (21-23°C) por pelo menos duas horas, para que ocorra a formação do coágulo e separação do soro. Retirar o êmbolo e repassar o soro para um tubo (Figura 4c), para evitar a hemólise. Manter em refrigeração até a chegada ao laboratório.



Como a doença se manifesta na granja?

Quando introduzida pela primeira vez na granja, a doença aparece na sua forma epidêmica e acomete até 100% dos animais, de várias faixas etárias. Uma vez estabelecida (forma endêmica), a doença geralmente aparece na fase de creche em rebanhos não vacinados, pois os anticorpos maternos persistem até a sexta semana de vida. Reinfecções podem ocorrer, uma vez que a imunidade cruzada entre subtipos virais é parcial.

Sinais clínicos dos suínos afetados: temperatura retal elevada (40,5-41,5°C), anorexia, prostração, secreção oculonasal serosa, taquipneia e, após alguns dias, tosse. Apesar da tosse ser o sinal clínico mais marcante da infecção pelo vírus influenza, suínos com tosse já passaram do ponto da maior quantidade de vírus no pulmão.

A mortalidade é baixa ($\leq 1\%$) e a recuperação é rápida, entre cinco e sete dias após o início dos sinais clínicos, desde que não ocorram complicações devido a infecções bacterianas secundárias.

LINHA DO TEMPO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS INFLUENZA A EM SUÍNOS

